植 物 分 类 与 资 源 学 报　2011, **33** (4): 365~375
Plant Diversity and Resources　DOI: 10.3724/SP.J.1143.2011.10202

叶绿体系统发育基因组学的研究进展*

张韵洁，李德铢**
（中国科学院昆明植物研究所生物多样性与生物地理学重点实验室，云南 昆明　650201）

摘要：系统发育基因组学是由系统发育研究和基因组学相结合产生的一门崭新的交叉学科。近年来，在植物系统发育研究中，基于叶绿体基因组的系统发育基因组学研究优势渐显端倪，为一些分类困难类群的系统学问题提出了解决方案，但同时也存在某些问题。本文结合近年来叶绿体系统发育基因组学研究中的一些典型实例，讨论了叶绿体系统发育基因组学在植物系统关系重建中的价值和应用前景，并针对其存在问题进行了探讨，其中也涉及了新一代测序技术对叶绿体系统发育基因组学的影响。
关键词：系统发育基因组学；叶绿体基因组；新一代测序技术；长枝吸引
中图分类号：Q 75，Q 949　**文献标识码**：A　**文章编号**：2095-0845(2011)04-365-11

Advances in Phylogenomics Based on Complete Chloroplast Genomes

ZHANG Yun-Jie, LI De-Zhu**
(*Key Laboratory of Biodiversity and Biogeography*, *Kunming Institute of Botany*, *Chinese Academy of Sciences*, Kunming 650201, China)

Abstract: Phylogenomics is a new synthesized discipline which combines genomics with phylogenetics. Phylogenomics based on chloroplast genomes has shown many great advantages in plant phylogenetic research in recent years, providing resolutions for phylogeny of some taxonomically difficult groups of plants. However, there are some problems coming along with chloroplast phylogenomics as well. In this review, the application prospects and potential problems of chloroplast phylogenomics in plant phylogenetic reconstruction were discussed based on recent phylogenomic case studies. The influence of next-generation sequencing on chloroplast phylogenomics was also discussed.
Key words: Phylogenomics; Chloroplast genome; Next-generation sequencing; Long-branch attraction

地球上的生命形式多种多样，它们因有着共同的进化历史而有着或近或远的渊源。正确理解不同生物类群之间的关系不仅是进化生物学研究的前提，生物分类和命名的依据，而且也是开展生物学其它分支学科研究的基础。因而构建可靠的系统发育树（即将各生物类群之间的关系形象地以树的形式描绘出来）不仅是系统发育研究的重点，也是生物学研究的重要内容之一。早期系统发育学家通过对化石记录、比较形态学和比较生理学的研究，构建出了物种进化历史的主要框架（Nei 和 Kumar，2000）。20 世纪 80 年代以后，随着分子生物学的快速发展，系统发育研究开始由比较形态学转向分子系统学研究领域，即利用生物大分子（如 DNA 序列、氨基酸序列等）所提供的信息来推断生物的进化历史（Li 和 Olmstead，1997；Nei 和 Kumar，2000；田欣和李德铢，2002）。分子系统学研究的出现使我们对生命进化过程有了更深刻的认识。然而随着分子证据的不断积累，基于不同分子片段对同一类群所进行的分子系统学研究结果之间存在的差异，

* 基金项目：中国科学院现代农业科技创新基地重要方向性项目“重要野生禾本科植物的比较基因组学和重要功能基因的研究（KSCX2-YW-N-029）”
** 通讯作者：Author for correspondence; E-mail: dzl@mail.kib.ac.cn
收稿日期：2010-11-15，2010-12-01 接受发表
作者简介：张韵洁（1984-）女，在读硕士研究生，主要从事植物系统发育基因组学研究。

也使人们逐渐认识到基因树虽然在一定程度能反映物种的进化历史，却不能等同于物种树（de Queiroz 等，1995；Wendel 和 Doyle，1998）。因此，越来越多的学者试图将来自不同基因组（如核基因组、线粒体基因组或叶绿体基因组）和具有不同功能的分子片段相结合，或与形态学性状联合起来进行分析。虽然研究方法有所不同，但系统发育学家所做的努力最终目的只有一个，即构建能反映物种真实进化关系的可靠的系统发育树。

随着测序技术的日益完善，越来越多的基因组序列得到解析，系统发育研究进入了一个崭新的时代——系统发育基因组学时代。系统发育基因组学是进化生物学领域里由系统发育学和基因组学结合形成的一门崭新的交叉学科（Eisen，1998；Eisen 和 Hanawalt，1999）。系统发育基因组学的研究是围绕着系统发育学和基因组学展开的，主要研究内容包括在基因组水平上用大规模的分子数据研究生物之间的系统发育关系以及利用进化关系反过来研究基因组的进化机制（如 DNA 修复过程，未知基因的功能注释等）（Eisen，1998；Eisen 和 Hanawalt，1999；Delsuc 等，2005）。

在植物中由于核基因组的复杂性使得单拷贝（或低拷贝）基因的筛选比较困难，而对植物核基因组的测序工作目前仅局限在基因组相对较小的模式物种或具有重要经济或生态价值的物种中，如拟南芥、水稻、高粱、黄瓜等，因此基于大规模核基因的植物系统发育基因组学的发展相对滞后。而植物线粒体基因组具有的很多特性使其在系统发育研究中的应用受到了限制，如线粒体基因组大小在各植物类群中变异很大（大多数被子植物线粒体基因组大小在 300～600 kb），且基因组中存在很多由基因组之间水平转移造成的外源基因插入（Palmer，1992）；线粒体基因组进化速率较慢，其核苷酸替换率比叶绿体基因组慢 4 倍，但在其基因组中却广泛存在分子内重组（intramolecular recombination）现象（Palmer 和 Herbon，1988；Lonsdale 等，1988）。因此，在植物中，线粒体基因组一般情况下不是系统发育基因组学研究的理想资源。植物叶绿体基因组序列具有很多优点，使之被广泛应用于分子进化及系统发育研究。首先，叶绿体基因组包含大量的遗传信息，为比较研究提供了一个较大的数据基础。其次，叶绿体 DNA 的核苷酸置换率适中，在应用上很有价值。叶绿体基因组的编码区和非编码区的分子进化速度差异显著，分别适用于不同阶层的系统学研究（Clegg 等，1994）。除此以外，叶绿体基因组大小适中，便于测序，且各植物类群叶绿体基因组之间具有良好的共线性，便于比较分析。因此，近年来基于叶绿体基因组的系统发育基因组学得到了较快的发展。到 2010 年 10 月为止，在 NCBI 数据库中收录的叶绿体基因组已达 146 个，其中 19 个为藻类，其余均为陆生植物，为系统发育研究提供了大量可用的数据。本文拟结合研究中的具体例子，探讨叶绿体系统发育基因组学在植物系统发育重建中的应用价值、存在的优势和问题以及新一代测序技术对叶绿体系统发育基因组学发展的促进作用。

1 叶绿体基因组的结构与功能

叶绿体是与光合作用直接相关的细胞器，其基因组的功能也跟光合作用密不可分，一般认为叶绿体是由蓝细菌通过内共生起源的。叶绿体作为植物细胞中一个独立的细胞器，拥有自己的一套完整的基因组。它在在裸子植物中一般为父系遗传，而在被子植物中多为母系遗传。双亲遗传的现象较为罕见，在被子植物中约占 14%（Corriveau 和 Coleman，1988）。叶绿体基因组一般为共价闭合环状 DNA，在细胞中以多拷贝的形式存在，高等植物的叶绿体基因组具有高度保守的四分体结构（Jansen 等，2005），即由两个反向重复序列（inverted repeat sequence，IR）将整个环状的叶绿体基因组分为大单拷贝区（large single copy，LSC）和小单拷贝区（small single copy，SSC）。也有少数植物如豆科的地三叶草（*Trifolium subterraneum*）、蒺藜苜蓿（*Medicago truncatula*）和鹰嘴豆（*Cicer arietinum*）因一个反向重复区完全丢失而具有特殊的叶绿体基因组结构（Cai 等，2008）。叶绿体基因组大小一般在 115～165 kb 范围内，基因组大小变异主要受反向重复区长度变异影响。叶绿体中绝大多数蛋白复合体是由核基因组和叶绿体基因组共同编码的。叶绿体基因组约编码 110～130 个基因，这些基因主要可分为三大类：第一类是那些涉及叶绿体基因表达的基因，包括编码叶绿体 RNA 聚合酶三

个亚基、核糖体 RNA、转运 RNA、核蛋白体蛋白及翻译起始蛋白等产物的基因；第二类基因是那些与光合作用有关的基因，如 Rubisco 大亚基基因，光合电子传递链中各蛋白复合体（PSⅠ，PSⅡ，细胞色素复合体，ATP 合成酶）的几个亚基基因等；第三类包括据推测为 NADH 脱氢酶各个亚基的基因和开放阅读框架，它们的功能目前尚待查明。陆生植物的叶绿体基因组在基因数目及基因排列顺序上相对保守，但一些类群的叶绿体基因组也具有其独特的特征，使其与其它植物区分开来。如松属植物叶绿体基因组的 *ndh* 基因家族全部丢失（Wakasugi 等，1994），而列当科寄生植物 *Epifagus virginiana* 的叶绿体基因组仅包含 42 个基因，丢失了与光合作用和叶绿体呼吸作用有关的所有基因以及叶绿体编码的 RNA 聚合酶基因（Wolfe 等，1992）。

2　叶绿体基因组在植物系统发育研究中的应用及优势

系统发育基因组学中所涉及的研究方法主要包括：（1）基于序列分析的方法，该方法与传统分子系统学研究方法一致，因而被广泛应用。（2）基于非序列的分析方法，主要包括全基因组特征分析（whole-genome features，WGFs），即对基因组成成分，基因排列顺序及寡核苷酸串在基因组中排布方式等的分析；稀有基因组变异（Rare genomic changes，RGCs），如插入缺失，内含子的有无，转座子插入，基因的融合和断裂等事件，这些稀有基因组变异可用于一些节点的支持，也可根据他们的有无构建系统树（Delsuc 等，2005；于黎和张亚平，2006）。叶绿体系统发育基因组学属于系统发育基因组学的范畴，因此它的研究方法同系统发育基因组学研究方法一致。

2.1　非序列分析方法

藻类植物的叶绿体基因组常发生基因组重排、基因含量和结构等变化，因此非序列分析方法多用于藻类植物的叶绿体系统发育基因组学研究。如利用基因组结构、基因含量及基因排列顺序推断原始绿藻 *Mesostigma viride* 和轮藻类的 *Chlorokybus atmophyticus* 在绿色植物界（Viridiplantae）的系统位置（Lemieux 等，2007）或是利用叶绿体基因组中的基因丢失情况研究叶绿体在整个植物界中的进化过程（Nozaki 等，2003）。而陆生植物叶绿体基因组结构、基因含量和基因排列顺序相对保守，因此在陆生植物的叶绿体系统发育基因组学研究中，全基因组特征和稀有基因组变异两种分析方法的应用相对较少，目前仅局限在叶绿体基因组经历了大规模重排的类群中。例如早期的研究表明桔梗科中一些植物的叶绿体基因组与烟草（茄科）基因组相比经历了大量的基因重排（Cosner 等，1997；Knox 等，1993，1999）。基于此，Cosner 等（2004）通过对桔梗科 18 个种叶绿体基因组的基因排列顺序进行分析，并以此构建系统树，从一个全新的角度阐述了桔梗科内部 18 个属间的系统发育关系。

虽然以上非序列分析方法的单独使用受到了一定程度的限制，但一般认为全基因组特征和稀有基因组改变较少受到平行演化和回复突变的影响，并且这种非序列分析方法受序列比对算法的内在影响较小，因此可与分子序列数据结合起来进行分析。从基因组特征和稀有基因组变异的角度挖掘基因组中的有用信息，可用于对基于序列分析的研究结果进行验证，或是用以确定某些争议类群的系统学位置。如 Pombert 等（2005）基于叶绿体基因组 58 个蛋白质编码基因的核苷酸序列和氨基酸序列对绿藻门中绿色鞭毛纲（Prasinophyceae）、石莼纲（Ulvophyceae）、共球藻纲（Trebouxiophyceae）及绿藻纲（Chlorophyceae）之间的系统发育关系进行研究，结果产生了具有两种不同拓扑结构的系统发育树，一种支持石莼纲和共球藻纲为姊妹关系，另一种支持石莼纲和绿藻纲为姊妹关系，而通过对叶绿体基因组中的基因排列顺序、基因丢失的情况及基因组重排断裂点进行分析，认为后一种系统发育关系更为合理。基因组特征和稀有基因组变异是叶绿体基因组中的宝贵资源，对正确理解物种之间的关系有着不可忽视的作用，但目前在叶绿体系统发育基因组学中，没有一套统一成熟的非序列分析方法。虽然也有少数基于非序列分析的方法学报道（Cosner 等，2000；Chu 等，2004；Yu 等，2005），但这些方法的有效性有待于在实践中进行进一步考证。

2.2　序列分析方法

基于序列分析的方法与传统的分子系统学研究方法一致，因而在叶绿体系统发育基因组学中

应用较为广泛。受数据获得较为困难的限制，叶绿体系统发育基因组学多用于较高阶元的系统学研究。最初多通过对某个或少数几个系统学位置具有争议的关键类群的叶绿体基因组进行测序，并结合数据库中已有的叶绿体基因组数据，用以研究这些类群在植物界中的系统学位置。例如葡萄科在被子植物中的系统学位置一直存在争议，基于一个或多个分子片段所进行的系统发育研究结果非常不一致，且支持率均较低（Savolainen等，2000；Chase等，1993；Hilu等，2003）。Jansen等（2006）对葡萄（*Vitis vinifera*）全叶绿体基因组进行测序，结合数据库中已有的26种被子植物叶绿体基因组序列进行系统发育研究，结果强烈支持葡萄科为其余蔷薇分支（rosids）植物的姊妹群。

随着叶绿体基因组数据的不断累积，使得分类学家可以利用大量叶绿体基因组对整个被子植物的系统发育关系进行重建，这些研究结果也使得被子植物系统发育的基本框架逐渐清晰。例如在被子植物中，虽然以*Amborella*、Nymphaeales和Austrobaileyales为核心的“ANITA阶”（ANITA grade）构成被子植物基部分支这一观点已形成共识，但究竟哪一个类群才是被子植物最基部的类群一直存在争议（Barkman等，2000；Leebens-Mack等，2005；Qiu等，2005）。Jansen等（2007）根据64个叶绿体基因组的81个基因，成功的解决了这一分类学上的争议问题。研究结果强烈支持*Amborella*为被子植物的最基部类群，随后依次是Nymphaeales和Austrobaileyales。再如在被子植物中，Pentapetalae分支包含除洋二仙草目（Gunnerales）以外的所有核心真双子叶植物分支。长期以来基于多个基因片段的系统学研究仍然没有解决Pentapetalae分支内部主要分支之间的关系（Soltis等，2003；Burleigh等，2009），这与Pentapetalae分支内部一些主要分支可能由快速分化形成有关，而这一假说也得到了化石证据的支持（Magallón等，1999；Magallón和Castillo，2009）。Moore等（2010）选取了86个种子植物叶绿体基因组的83个蛋白质编码基因和rRNA基因，对Pentapetalae分支做了比较全面的分析，很好的解决了该分支内部很多主要分支间的系统学关系。对于一些用大规模分子数据仍未解决其系统关系的类群，如唇形亚纲（Lamiidae）内部关系，昆栏树目（Trochodendrales），黄杨目（Buxales）和洋二仙草分支（Gunneridae）之间的关系，作者也指出这些类群可能经历了快速分化的过程。

在较高分类阶元的系统发育基因组学研究中多利用来自叶绿体基因组编码区的信息，而对于较低阶元分类群，如亚科下、属下分类阶元等，叶绿体基因组具有的良好共线性使基于全叶绿体基因组的序列比对成为可能，而非编码区的参与分析为解决低阶元分类群之间的系统关系提供了庞大的数据基础。对于因研究类群之间分子差异较小而使其分子系统发育研究显得较为困难的类群，利用叶绿体系统发育基因组学手段将会是一个较好的解决方案。Parks等（2009）运用新一代测序技术测序了37个松属植物及其近缘种的叶绿体基因组，用以研究松属植物内部的系统学关系。与以往基于多个分子片段的研究结果相比，采用系统发育基因组学的手段，大大提高了松属植物内部分支的分辨率和支持率。这一研究成果首次证实了全叶绿体基因组序列用于低分类阶元系统发育研究的可行性及优势。

禾本科是叶绿体基因组研究比较集中的一个科，但竹亚科，特别是木本竹类的叶绿体基因组研究比较少。木本竹类种类丰富、形态多样、分布广泛，其漫长的开花周期使得收集完整的花序、子房和果实等十分困难，而分子系统学研究结果表明木本竹类的分子变异率较低，能提供的系统发育信息较少，因此无论从形态上还是分子水平上，都被认为是分类学中的一个困难类群。基于以上研究背景，Zhang等（2011）利用新一代测序技术对六种木本竹类的叶绿体全基因组进行了测序，并结合已测序的18个禾本科叶绿体全基因组进行系统发育分析，以此评估叶绿体系统发育基因组学在竹亚科植物系统发育重建中的有效性。研究结果在叶绿体基因组水平上证实了禾本科BEP分支中竹亚科和早熟禾亚科为姊妹关系。与传统的分子系统学研究结果相比（Zeng等，2010），利用叶绿体全基因组序列所构建的系统发育树在竹亚科内部具有更高的分辨率和支持率。由此可见，对于木本竹类这样一个分子变异率极低的类群来说，利用全叶绿体基因组数据

对其系统发育进行重建是较为有效的，更多木本竹类的叶绿体基因组全序列的测定，将有助于竹亚科植物系统发育关系的重建。相信伴随着测序技术的发展，叶绿体系统发育基因组学在低阶元分类系统中的应用价值将得到更多的体现。

2.3　叶绿体系统发育基因组学在植物系统发育研究中的优势

从近年来的研究进展中不难看出，叶绿体系统发育基因组学已成为植物进化生物学的重要研究趋势之一。虽然基于核基因组数据的系统发育基因组学在植物系统发育研究中也扮演着重要的角色（Zou 等, 2008），但目前由于很多植物类群的基因组背景尚不清楚，而核基因组结构较为复杂，对于直系同源（orthology）基因的选择显得较为困难，因此使得基于核基因组的系统发育基因组学在植物的进化研究中受到了很大的限制。而叶绿体系统发育基因组学作为植物系统发育的新型研究手段之一，存在很多优势：（1）叶绿体基因组结构及基因含量较为保守，易于测序，且除了反向重复区外所有基因均为单拷贝，几乎不存在（或很少受）旁系同源（paralogy）基因的干扰。（2）叶绿体基因组中除包含大量的核苷酸和氨基酸序列信息，其基因组特征也可作为系统发育分析的有效资源，对正确理解物种之间的亲缘关系有着巨大的潜在价值。（3）对于一些低分类阶元类群，或由于分子进化速率较慢，分化时间较短的类群，往往因为分子水平的变异较低，能提供的信息位点较少，而成为分类学上的困难类群。而利用叶绿体系统发育基因组学，能提供大量的数据信息，对于这样一些分类困难的类群不失为一种很好的选择。（4）传统的分子系统学往往采用少数几个分子片段和密集取样的策略进行系统学研究，而叶绿体系统发育基因组学作为传统分子系统学的“对立面”（一般采用大规模基因组数据和较少分类群代表），可以从另一个全新的角度对传统分子系统学研究结果（特别是在分辨率低和基于不同片段建立的分子树存在冲突的情况下）进行补充和评估。

3　叶绿体系统发育基因组学存在的问题

基于分子序列推断系统发育关系时，因为随机误差（即由于基因片段较短或信息含量较低所造成的取样误差）和系统误差（因系统分析方法与分子数据实际的进化模式不一致而带来的误差，是系统分析方法的固有误差）的存在，会导致基于不同分子片段或不同取样策略所进行的系统发育研究结果的不一致或者说是基因树与物种树之间的冲突。虽然叶绿体系统发育基因组学能尽可能的减少由随机误差带来的影响，但与传统的系统发育研究一样，它同样无法避免系统误差带来的影响。而这种系统误差不会因为数据量的增加而减小，在某些情况下还会因为数据量的增加而被不断放大。因此，系统发育基因组学带来的一个新的问题是，所构建的基因组树具有很高的支持率，却不一定反映真实的系统发育关系。因而相较于用较少基因片段所构建的系统发育树来说，用系统发育基因组树来判断物种之间的真实进化关系需更为谨慎（Phillips 等, 2004；Soltis 和 Soltis, 2004；Stefanović等, 2004；Lockhart 等, 2005）。

近年来关于叶绿体系统发育基因组学的争议主要围绕由系统误差导致的长枝吸引假象展开。长枝吸引（long-branch attraction，LBA）假象是指在使用系统发育分析方法分析一个有限的数据集时，由于高频的平行突变、回复突变或快速进化等因素的存在使亲缘关系较远的序列达到相似状态，而分析方法中存在的固有偏差却错误的将这些不是来自共同祖先的序列聚在一起的现象（Bergsten, 2005）。引起长枝吸引假象产生的原因很多，其中一个典型的原因就是由于取样不全所造成的长枝吸引。系统发育基因组学一般是基于大规模和多个基因数据信息，通常只有较少分类群代表的一种分析方法，因而相较于传统的系统发育研究方法，系统发育基因组学更容易出现因取样不全而导致的长枝吸引假象（Soltis 等, 2004；Philippe 等, 2005）。关于被子植物基部类群的争议，是叶绿体系统发育基因组学研究中因取样不当造成长枝吸引假象的典型例子。在对被子植物基部类群的研究中，基于一个或多个基因片段的分子系统学研究结果表明 *Amborella* 或 *Amborella*-Nymphaeales 为被子植物的基部类群。然而 Goremykin 等（2003, 2004）在对 *Amborella trichopoda* 和 *Nymphaea alba* 的叶绿体全基因组测序后，结合数据库中 12 个叶绿体基因组的 61 个蛋白质编码基因进行系统学研究，指出单子叶植

物才是被子植物的基部类群。这一研究结果引起了学术界的强烈关注。此后，Soltis 和 Soltis（2004），Stefanović 等（2004）在 Goremykin 的数据基础上增加了一个关键类群后得出的结果表示 *Amborella* 或 *Amborell*-Nymphaeales 仍然为被子植物的基部类群。且这一研究结果在增大取样量后所进行的叶绿体系统发育基因组学研究中也得到了证实（Leebens-Mack，2005；Jansen 等，2007；Moore 等，2010）。Goremykin 等的研究结果主要是由于取样不当造成的，禾本科植物在起源过程中经历了一个快速进化的过程（Chaw 等，2004；Zhong 等，2009），因而仅以禾本科植物叶绿体基因组作为单子叶植物的代表，就造成了禾本科植物因显著加快的进化速率而被“吸引”到基部的长枝吸引假象。

长枝吸引现象一直是系统发育研究中的热点和难点，众多研究结果指出避免长枝吸引产生的方法主要有以下几种：(1）选用对长枝吸引较不敏感的系统分析方法，如改良的简约分析法（Lake，1987；Willson，1999）或最大似然法（Swofford 等，1996；Huelsenbeck，1997）等。(2）在分析时选取进化速率较慢的物种代表该物种所在的类群（Aguinaldo 等，1997；Brinkmann 和 Philippe，1999；Kim 等，1999）或相应的去除长枝类群，即进化速率显著加快的类群。(3）去除进化速率较快的序列位点，如第三位密码子（Lyons-Weiler 和 Hoelzer，1997）。(4）密集取样以打断长枝，该方法目前被认为是避免长枝吸引假象产生的最有效办法（Hendy 和 Penny，1989；Hillis，1996；Swofford 等，1996；Graybeal，1998；Hillis，1998）。然而对系统发育基因组学而言，由于获得基因组信息相对较难，因而目前阶段很难做到密集取样。而大量基因组数据的产生在增加了系统发育信号的同时，进化过程中的“噪音”（如回复突变、趋同突变、平行突变等）也随之被放大。为尽量减少这些“噪音”带来的影响，有学者提出在系统发育基因组学研究中，应适当的选取基因组数据信息（如使用氨基酸序列以减少由密码子简并性带来的进化“噪音”）或者适量的舍弃基因组数据信息中的“噪音”成分（如第三位密码子）（Jeffroy 等，2006）。这一理论也在近期的叶绿体系统发育基因组学研究中得到了证实。例如，买麻藤目的系统学关系一直以来备受争议，分子系统学研究结果主要存在三种假说：（1）买麻藤目与整个松柏类植物为姊妹关系（Chaw 等，1997）；（2）买麻藤目位于松柏类中，与松科植物为姊妹群（Bowe 等，2000；Chaw 等，2000；Hajibabaei 等，2006；Wu 等，2007）；（3）买麻藤目位于松柏类中，与杉科植物为姊妹群（Nickrent 等，2000；Doyle，2006）。各种研究证据表明在关于买麻藤目的研究中可能存在长枝吸引的影响（Felsenstein，1978；Hendy 和 Penny，1989；Lockhart 和 Steel，2005；Hajibabaei 等，2006）。Zhong 等（2010）利用叶绿体系统发育基因组学的手段对买麻藤目的系统学位置进行了研究。这一研究最初使用 13 个种的 56 个基因的氨基酸序列进行分析，结果表明买麻藤目与杉科更近，但买麻藤目和杉科的枝长均显著长于其他分支，有可能是受到长枝吸引的作用。因此该研究进一步结合多种取样手段及去除一些快速进化或受平行氨基酸替换影响的蛋白质序列和位点后，指出买麻藤目与松科关系更近这一假说更为合理。同时，这一研究中也对原有的 cpREV 模型进行了改进，并证明新的模型可相对减轻长枝吸引带来的影响。在这一研究基础上，作者指出在叶绿体基因组数据中长枝吸引及平行核苷酸替代（parallel substitutions）可能导致买麻藤目的系统学位置出现严重的偏差，而增加取样量和移除一些快速进化的基因能有效的避免长枝吸引带来的影响。基于目前非松科的松柏类植物仅有柳杉（*Cryptomeria japonica*）的叶绿体基因组作为代表种，作者也认为更多非松科的松柏类植物的叶绿体基因组测序将会为买麻藤目的系统学位置带来更好的解释。

以上两个例子可以说明在实际应用中，对于叶绿体系统发育基因组学因取样不全而带来的长枝吸引假象，应加以小心判断，通过不同的取样策略和不同的研究方法，可将这种影响降到最低。同时，随着系统发育基因组学的发展，对系统发育研究方法也提出了新的要求。如概率分析方法中应使用能尽量反映真实核苷酸替代模式的模型，以减少由模型不适带来的影响（Steel，2005）。用于动物线粒体蛋白质的氨基酸替代模型很多，但对于植物叶绿体蛋白质的氨基酸替代

模型目前却只有 cpREV 一种报道（Adachi 等，2000）。随着叶绿体系统发育基因组学的迅速发展，对新的氨基酸或核苷酸替代模型的需要也迫在眉睫。

虽然叶绿体基因组在系统发育研究中具有众多的优点，但是必须认识到的一点是叶绿体系统发育基因组学并不是解决植物系统学问题的万能药。例如对于一些在进化过程中经历了快速分化的类群，有研究表明全叶绿体基因组数据仍然不足以完全解决这些类群的系统发育关系（Parks 等，2009；Moore 等，2010）。对于这样一些类群，结合大量核基因组数据进行分析仍然是必要的。其次，叶绿体在大多数植物类群中是单亲遗传，来自叶绿体基因组的信息一般情况下仅能反映母系或父系进化历程，并不能完全揭示植物生命进化的全部过程。但对叶绿体基因组树的正确认识是研究物种进化的前提，结合来自核基因组的数据，能更全面的揭示植物生命进化的全过程，并发现一些生命进化过程中有趣的现象，如杂交、渐渗等。

4 新一代测序技术对叶绿体系统发育基因组学发展的促进作用

在新一代测序技术尚未出现以前，叶绿体全基因组的测序一般采用以下三种策略：(1) 先分离纯化叶绿体基因组，并构建质粒文库，采用全基因组鸟枪法（Whole Genome Shotgun Sequencing）进行测序。该方法的一大难点在于分离纯化叶绿体基因组在实际操作中较为困难，叶绿体基因组的含量和纯度直接影响需挑取测序的克隆数目。对于一些高纤维含量的植物，分离纯化其叶绿体基因组相当困难（Jansen 等，2005），且分离纯化叶绿体基因组需要新鲜幼嫩的材料，这在一定程度上限制了该方法的应用。(2) 全基因组构建 BAC（Bacterial Artificial Chromosome，细菌人工染色体）文库，利用叶绿体探针在 BAC 文库中挑取含叶绿体基因组的克隆，再进一步采用鸟枪法进行测序。该方法一般是在已建立 BAC 文库的基础上进行的，因为成本较高，对于没有建立 BAC 文库的物种，想要获得其叶绿体基因组序列一般不采用这种方法。(3) 利用叶绿体基因组的相对保守性设计引物，采用长 PCR（Long PCR）或 PCR 的方法进行测序，这是目前运用的比较多的方法，但仍然存在工作量大，耗时长等问题。

新一代测序技术（next-generation sequencing，NGS）是相对于传统的 Sanger 测序法（即末端终止法）而言的，又称第二代测序技术。它是对在末端终止法、连接酶测序法（sequencing by ligation，SbL）、焦磷酸测序法（pyrosequencing）和杂交测序法（sequencing by hybridization，SbH）的基础上进行改良的测序技术的统称。新一代测序平台的典型代表有罗氏（Roche）公司的 454 测序平台，Illumina 公司的 Solexa 测序平台以及 ABI（Applied Biosystems）公司的 SOLiD 测序平台（Shendure 和 Ji，2008）。新一代测序技术的诞生，使基因组学和功能基因组学进入了一个低成本、大规模、高通量测序的时代，同时也为叶绿体系统发育基因组学带来了新的契机。新一代测序技术的测序长度一般较短，根据测序平台不同，读长从 25 ~ 450 bp 不等，适用于结构及成分较为简单的基因组的测序。叶绿体基因组因大小适中，且基因含量及基因组结构相对保守，基因组中重复序列含量相对较少，对于单个个体而言叶绿体基因组无变异或仅有极少量变异，因此新一代测序技术完全适用于叶绿体基因组的测序。

利用新一代测序技术获得叶绿体基因组数据相对于传统方法的优势在于成本较低，可在短时间内同时获得多个叶绿体基因组数据，测序深度（Sequencing Depth）为传统方法的 2 ~ 10 倍。Moore 等（2006）首次应用 454 测序平台，对南天竹（*Nandina domestica*）和一球悬铃木（*Platanus occidentalis*）进行测序，两个基因组均获得了高于 99.75% 的基因组覆盖度，测序深度分别为 24.6×（南天竹）和 17.3×（一球悬铃木）。最近该方法也成功用于绿豆（*Vigna radiata*）叶绿体基因组的测序（Tangphatsornruang 等，2010）。Cronn 等（2008）首次利用 Solexa 测序平台同时测序了 8 个针叶树叶绿体基因组，基因组覆盖度为 88% ~94%，测序深度为 55×到 186×，证实了利用 Solexa 测序平台能高效快速的获得叶绿体基因组数据。随后该方法继续用于 37 个松属植物及其近缘种的叶绿体基因组测序，并在此基础

上对松属植物的系统发育关系进行了进一步探讨（Parks等，2009）。得益于新一代测序技术的发展，叶绿体全基因组数据不仅可用于研究较低分类阶元的系统关系，最近的研究还指出全叶绿体基因组数据在研究分布于不同地理位置的同一物种的种内变异中也存在着巨大的潜力（Whittall等，2010）。叶绿体基因组在居群水平的应用可为研究种内分化时间和分化强度提供线索。结合核基因组数据进行分析还可为植物的花粉传播、迁移途径及物种进化动力等有更全面的了解。

由于叶绿体基因组数据在以前获得较为困难，使得基于叶绿体基因组的系统发育基因组学发展受到了很大程度的限制。随着新一代测序技术的日趋成熟以及序列拼接软件的不断完善，叶绿体基因组数据的获得变得高效快速，且大大降低了测序成本。这为同时获取多个叶绿体基因组数据提供了坚实的技术支持，随着叶绿体基因组数目的增加，因取样不全而带来的长枝吸引现象也能最大限度的避免。不仅如此，新一代测序技术的发展，将大大促进叶绿体系统发育基因组学在较低级分类阶元中的应用。从近年来新一代测序技术在叶绿体基因组数据获得中的成功运用不难看出，这一新技术的出现将大大推动叶绿体系统发育基因组学的发展，从而为植物的系统发育研究带来新的曙光。

〔参 考 文 献〕

Adachi J, Waddell PJ, Martin W *et al.*, 2000. Plastid genome phylogeny and a model of amino acid substitution for proteins encoded by chloroplast DNA [J]. *Journal of Molecular Evolution*, **50** (4): 348—358

Aguinaldo AMA, Turbeville JM, Linford LS *et al.*, 1997. Evidence for a clade of nematodes, arthropods and other moulting animals [J]. *Nature*, **387** (6632): 489—493

Barkman TJ, Chenery G, McNeal JR *et al.*, 2000. Independent and combined analyses of sequences from all three genomic compartments converge on the root of flowering plant phylogeny [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **97** (24): 13166—13171

Bergsten J, 2005. A review of long-branch attraction [J]. *Cladistics*, **21** (2): 163—193

Bowe LM, Coat G, DePamphilis CW, 2000. Phylogeny of seed plants based on all three genomic compartments: extant gymnosperms are monophyletic and Gnetales' closest relatives are conifers [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97** (8): 4092—4097

Brinkmann H, Philippe H, 1999. Archaea sister group of Bacteria? Indications from tree reconstruction artifacts in ancient phylogenies [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **16** (6): 817—825

Burleigh JG, Hilu KW, Soltis DE, 2009. Inferring phylogenies with incomplete data sets: a 5-gene, 567-taxon analysis of angiosperms [J]. *BMC Evolutionary Biology*, **9** (1): 61

Cai Z, Guisinger M, Kim HG *et al.*, 2008. Extensive reorganization of the plastid genome of *Trifolium subterraneum* (Fabaceae) is associated with numerous repeated sequences and novel DNA insertions [J]. *Journal of Molecular Evolution*, **67** (6): 696—704

Chase MW, Soltis DE, Olmstead RG *et al.*, 1993. Phylogenetics of seed plants: an analysis of nucleotide sequences from the plastid gene rbcL [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **80** (3): 528—580

Chaw SM, Chang CC, Chen HL *et al.*, 2004. Dating the monocot-dicot divergence and the origin of core eudicots using whole chloroplast genomes [J]. *Journal of Molecular Evolution*, **58** (4): 424—441

Chaw SM, Parkinson CL, Cheng Y *et al.*, 2000. Seed plant phylogeny inferred from all three plant genomes: monophyly of extant gymnosperms and origin of Gnetales from conifers [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **97** (8): 4086—4091

Chaw SM, Zharkikh A, Sung HM *et al.*, 1997. Molecular phylogeny of extant gymnosperms and seed plant evolution: analysis of nuclear 18S rRNA sequences [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **14** (1): 56—68

Chu KH, Qi J, Yu ZG *et al.*, 2004. Origin and phylogeny of chloroplasts revealed by a simple correlation analysis of complete genomes [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **21** (1): 200—206

Clegg MT, Gaut BS, Learn GH *et al.*, 1994. Rates and patterns of chloroplast DNA evolution [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91** (15): 6795—6801

Corriveau JL, Coleman AW, 1988. Rapid screening method to detect potential biparental inheritance of plastid DNA and results for over 200 angiosperm species [J]. *American Journal of Botany*, **75** (10): 1443—1458

Cosner ME, Jansen RK, Moret BME *et al.*, 2000. An empirical comparison of phylogenetic methods on chloroplast gene order data in Campanulaceae [A]. In: Sankoff D, Nadeau JH eds. *Comparative Genomics: Empirical and Analytical Approaches to Gene Order Dynamics, Map Alignment, and the Evolution of Gene Families* [M]. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 99—121

Cosner ME, Jansen RK, Palmer JD *et al.*, 1997. The highly rearranged chloroplast genome of *Trachelium caeruleum* (Campanulaceae): multiple inversions, inverted repeat expansion and con-

traction, transposition, insertions/deletions, and several repeat families [J]. *Current Genetics*, **31** (5): 419—429

Cosner ME, Raubeson LA, Jansen RK, 2004. Chloroplast DNA rearrangements in Campanulaceae: phylogenetic utility of highly rearranged genomes [J]. *BMC Evolutionary Biology*, **4** (1): 27

Cronn R, Liston A, Parks M *et al.*, 2008. Multiplex sequencing of plant chloroplast genomes using Solexa sequencing-by-synthesis technology [J]. *Nucleic Acids Research*, **36** (19): e122

Delsuc F, Brinkmann H, Philippe H, 2005. Phylogenomics and the reconstruction of the tree of life [J]. *Nature Reviews Genetics*, **6** (5): 361—375

de Queiroz A, Donoghue MJ, Kim J, 1995. Separate versus combined analysis of phylogenetic evidence [J]. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **26** (1): 657—681

Doyle JA, 2006. Seed ferns and the origin of angiosperms [J]. *The Journal of the Torrey Botanical Society*, **133** (1): 169—209

Eisen JA, 1998. Phylogenomics: improving functional predictions for uncharacterized genes by evolutionary analysis [J]. *Genome research*, **8** (3): 163—167

Eisen JA, Hanawalt PC, 1999. A phylogenomic study of DNA repair genes, proteins, and processes [J]. *Mutation Research*, **435** (3): 171—213

Felsenstein J, 1978. Cases in which parsimony or compatibility methods will be positively misleading [J]. *Systematic Biology*, **27** (4): 401—410

Goremykin VV, Hirsch-Ernst KI, Wolfl S *et al.*, 2003. Analysis of the *Amborella trichopoda* chloroplast genome sequence suggests that *Amborella* is not a basal angiosperm [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **20** (9): 1499—1505

Goremykin VV, Hirsch-Ernst KI, Wolfl S *et al.*, 2004. The chloroplast genome of *Nymphaea alba*: whole-genome analyses and the problem of identifying the most basal angiosperm [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **21** (7): 1445—1454

Graybeal A, 1998. Is it better to add taxa or characters to a difficult phylogenetic problem? [J]. *Systematic Biology*, **47** (1): 9—17

Hajibabaei M, Xia J, Drouin G, 2006. Seed plant phylogeny: Gnetophytes are derived conifers and a sister group to Pinaceae [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **40** (1): 208—217

Hendy MD, Penny D, 1989. A framework for the quantitative study of evolutionary trees [J]. *Systematic Biology*, **38** (4): 297—309

Hillis DM, 1996. Inferring complex phylogenies [J]. *Nature*, **383**: 130—131

Hillis DM, 1998. Taxonomic sampling, phylogenetic accuracy, and investigator bias [J]. *Systematic Biology*, **47** (1): 3—8

Hilu KW, Borsch T, Muller K *et al.*, 2003. Angiosperm phylogeny based on matK sequence information [J]. *American Journal of Botany*, **90** (12): 1758—1776

Huelsenbeck JP, 1997. Is the Felsenstein zone a fly trap? [J]. *Systematic Biology*, **46** (1): 69—74

Jansen RK, Cai Z, Raubeson LA *et al.*, 2007. Analysis of 81 genes from 64 plastid genomes resolves relationships in angiosperms and identifies genome-scale evolutionary patterns [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **104** (49): 19369—19374

Jansen RK, Kaittanis C, Saski C *et al.*, 2006. Phylogenetic analyses of *Vitis* (Vitaceae) based on complete chloroplast genome sequences: effects of taxon sampling and phylogenetic methods on resolving relationships among rosids [J]. *BMC Evolutionary Biology*, **6** (1): 32

Jansen RK, Raubeson LA, Boore JL *et al.*, 2005. Methods for obtaining and analyzing whole chloroplast genome sequences [J]. *Methods in Enzymology*, **395**: 348—384

Jeffroy O, Brinkmann H, Delsuc F *et al.*, 2006. Phylogenomics: the beginning of incongruence? [J]. *Trends in Genetics*, **22** (4): 225—231

Kim J, Kim W, Cunningham CW, 1999. A new perspective on lower metazoan relationships from 18S rDNA sequences [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **16**: 423—427

Knox EB, Downie SR, Palmer JD, 1993. Chloroplast genome rearrangements and the evolution of giant lobelias from herbaceous ancestors [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **10** (2): 414—430

Knox EB, Palmer JD, 1999. The chloroplast genome arrangement of *Lobelia thuliniana* (Lobeliaceae): expansion of the inverted repeat in an ancestor of the Campanulales [J]. *Plant Systematics and Evolution*, **214** (1): 49—64

Lake JA, 1987. A rate-independent technique for analysis of nucleic acid sequences: evolutionary parsimony [J]. *Molecular Biology and Evolution*, 4 (2): 167—191

Leebens-Mack J, Raubeson LA, Cui L *et al.*, 2005. Identifying the basal angiosperm node in chloroplast genome phylogenies: sampling one's way out of the Felsenstein zone [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **22** (10): 1948—1963

Lemieux C, Otis C, Turmel M, 2007. A clade uniting the green algae *Mesostigma viride* and *Chlorokybus atmophyticus* represents the deepest branch of the Streptophyta in chloroplast genome-based phylogenies [J]. *BMC biology*, **5** (1): 2

Li W, Olmstead R, 1997. *Molecular Evolution* [M]. Sunderland, MA: Sinauer Associates

Lockhart PJ, Penny D, Soltis DE *et al.*, 2005. The place of *Amborella* within the radiation of angiosperms [J]. *Trends in Plant Science*, **10** (5): 201—202

Lockhart P, Steel M, 2005. A tale of two processes [J]. *Systematic Biology*, **54** (6): 948—951

Lonsdale DM, Brears T, Hodge TP *et al.*, 1988. The plant mitochondrial genome: homologous recombination as a mechanism for generating heterogeneity [J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B*, **319** (1193): 149—163

Lyons-Weiler J, Hoelzer GA, 1997. Escaping from the felsenstein zone by detecting long branches in phylogenetic Data [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **8** (3): 375—384

Magallón S, Castillo A, 2009. Angiosperm diversification through time [J]. *American Journal of Botany*, **96** (1): 349—365

Magallón S, Crane PR, Herendeen PS, 1999. Phylogenetic pattern, diversity, and diversification of eudicots [J]. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, **86** (2): 297—372

Moore MJ, Dhingra A, Soltis PS *et al*., 2006. Rapid and accurate pyrosequencing of angiosperm plastid genomes [J]. *BMC Plant Biology*, **6** (1): 17

Moore MJ, Soltis PS, Bell CD *et al*., 2010. Phylogenetic analysis of 83 plastid genes further resolves the early diversification of eudicots [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, **107** (10): 4623—4628

Nei M, Kumar S, 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics* [M]. New York: Oxford University Press

Nickrent DL, Parkinson CL, Palmer JD *et al*., 2000. Multigene phylogeny of land plants with special reference to bryophytes and the earliest land plants [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **17** (12): 1885—1895

Nozaki H, Ohta N, Matsuzaki M *et al*., 2003. Phylogeny of plastids based on cladistic analysis of gene loss inferred from complete plastid genome sequences [J]. *Journal of Molecular Evolution*, **57** (4): 377—382

Palmer JD, 1992. Mitochondrial DNA in plant systematics: applications and limitations [A]. In: Soltis PS, Soltis DE, Doyle JJ eds. *Molecular Systematics of Plants* [M]. New York: Chapman and Hall, 36—49

Palmer JD, Herbon LA, 1988. Plant mitochondrial DNA evolved rapidly in structure, but slowly in sequence [J]. *Journal of Molecular Evolution*, **28** (1): 87—97

Parks M, Cronn R, Liston A, 2009. Increasing phylogenetic resolution at low taxonomic levels using massively parallel sequencing of chloroplast genomes [J]. *BMC biology*, **7** (1): 84

Philippe H, Lartillot N, Brinkmann H, 2005. Multigene analyses of bilaterian animals corroborate the monophyly of Ecdysozoa, Lophotrochozoa, and Protostomia [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **22** (5): 1246—1253

Phillips MJ, Delsuc F, Penny D, 2004. Genome-scale phylogeny and the detection of systematic biases [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **21** (7): 1455—1458

Pombert JF, Otis C, Lemieux C *et al*., 2005. The chloroplast genome sequence of the green alga *Pseudendoclonium akinetum* (Ulvophyceae) reveals unusual structural features and new insights into the branching order of chlorophyte lineages [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **22** (9): 1903—1918

Qiu YL, Dombrovska O, Lee J *et al*., 2005. Phylogenetic analyses of basal angiosperms based on nine plastid, mitochondrial, and nuclear genes [J]. *International Journal of Plant Sciences*, **166** (5): 815—842

Savolainen V, Chase MW, Hoot SB *et al*., 2000. Phylogenetics of flowering plants based on combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* gene sequences [J]. *Systematic Biology*, **49** (2): 306—362

Shendure J, Ji H, 2008. Next-generation DNA sequencing [J]. *Nature biotechnology*, **26** (10): 1135—1145

Soltis DE, Senters AE, Zanis MJ *et al*., 2003. Gunnerales are sister to other core eudicots: implications for the evolution of pentamery [J]. *American Journal of Botany*, **90** (3): 461—470

Soltis DE, Albert VA, Savolainen V *et al*., 2004. Genome-scale data, angiosperm relationships, and 'ending incongruence': a cautionary tale in phylogenetics [J]. *Trends in plant science*, **9** (10): 477—483

Soltis DE, Soltis PS, 2004. *Amborella* not a "basal angiosperm"? Not so fast [J]. *American Journal of Botany*, **91** (6): 997—1001

Steel M, 2005. Should phylogenetic models be trying to 'fit an elephant'? [J]. *Trends in Genetics*, **21** (6): 307—309

Stefanović S, Rice DW, Palmer JD, 2004. Long branch attraction, taxon sampling, and the earliest angiosperms: *Amborella* or monocots? [J]. *BMC Evolutionary Biology*, **4** (1): 35

Swofford DL, Olsen GJ, Waddell PJ *et al*., 1996. Phylogenetic inference [A]. In: Hillis DM, Moritz C, Mable BK eds. *Phylogenetic Inference* [M]. MA: Sinauer Associates, Sunderland, 407—514

Tangphatsornruang S, Sangsrakru D, Chanprasert J *et al*., 2010. The chloroplast genome sequence of Mungbean (*Vigna radiata*) determined by high-throughput pyrosequencing: structural organization and phylogenetic relationships [J]. *DNA Research*, **17** (1): 11—22

Tian X (田欣), Li DZ (李德铢), 2002. Application of DNA sequences in plant phylogentic study [J]. *Acta Botanica Yunnanica* (云南植物研究), **24**: 170—184

Wakasugi T, Tsudzuki J, Ito S *et al*., 1994. Loss of all ndh genes as determined by sequencing the entire chloroplast genome of the black pine *Pinus thunbergii* [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **91** (21): 9794—9798

Wendel JF, Doyle JJ, 1998. Phylogenetic incongruence: window into genome history and molecular evolution [A]. In: Soltis DE, Soltis PS, Doyle JJ eds. *Molecular Systematics of Plants II: DNA sequencing* [M]. Boston: Kluwer, 265—296

Whittall JB, Syring J, Parks M *et al*., 2010. Finding a (pine) needle in a haystack: chloroplast genome sequence divergence in rare and widespread pines [J]. *Molecular Ecology*, **19** (S1): 100—114

Willson SJ, 1999. A higher order parsimony method to reduce long-branch attraction [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **16**: 694—705

Wolfe KH, Morden CW, Palmer JD, 1992. Function and evolution of a minimal plastid genome from a nonphotosynthetic parasitic plant [J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **89** (22): 10648—10652

Wu CS, Wang YN, Liu SM *et al*., 2007. Chloroplast genome (cpD-

NA) of *Cycas taitungensis* and 56 cp protein-coding genes of *Gnetum parvifolium*: insights into cpDNA evolution and phylogeny of extant seed plants [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **24** (6): 1366—1379

Yu L (于黎), Zhang YP (张亚平), 2006. Phylogenomic——An attractive avenue to reconstruct "tree of life" [J]. *Hereditas* (遗传), **28** (11): 1445—1450

Yu ZG, Zhou LQ, Anh VV *et al.*, 2005. Phylogeny of prokaryotes and chloroplasts revealed by a simple composition approach on all protein sequences from complete genomes without sequence alignment [J]. *Journal of Molecular Evolution*, **60** (4): 538—545

Zeng CX, Zhang YX, Triplett JK *et al.*, 2010. Large multi-locus plastid phylogeny of the tribe Arundinarieae (Poaceae: Bambusoideae) reveals ten major lineages and low rate of molecular divergence [J]. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, **56** (2): 821—839

Zhang YJ, Ma PF, Li DZ, 2011. High-throughput sequencing of six bamboo chloroplast genomes: phylogenetic implications for temperate woody bamboos (Poaceae: Bambusoideae) [J]. *PloS ONE*, **6** (5): e20596

Zhong B, Yonezawa T, Zhong Y *et al.*, 2009. Episodic evolution and adaptation of chloroplast genomes in ancestral grasses [J]. *PloS ONE*, **4** (4): e5297

Zhong B, Yonezawa T, Zhong Y *et al.*, 2010. The position of Gnetales among seed plants: overcoming pitfalls of chloroplast phylogenomics [J]. *Molecular Biology and Evolution*, **27** (12): 2855—2863

Zou XH, Zhang FM, Zhang JG *et al.*, 2008. Analysis of 142 genes resolves the rapid diversification of the rice genus [J]. *Genome Biology*, **9** (3): R49

书评

A review of *Bamboos at TBGRI* by K. C. Koshy

Koshy, K. C. (2010). Bamboos at TBGRI. Pp. 104, 128 colour photographs, 1 painting, 1 graph, 1 map. India: Kerala, Tropical Botanic Garden and Research Institute (TBGRI), Palode, Thiruvananthapuram 695562. Price Rs. 600; US $ 30 (postage & handling free). ISBN 978-81-920098-0-3 (soft cover).

This book tells the story of the establishment of a bambusetum at the Tropical Botanic Garden and Research Institute in the state of Kerala in southern India. Started in 1987 by the author, it could be held up as a model of thoroughness in building up a living bamboo collection. Scrupulous care was taken to document all introductions and their location in the Garden. Although only 68 species are represented, great effort was taken to acquire a diversity of genotypes within them amounting to 933 different accessions. This diversity is valuable for understanding specific variability, flowering cycles, and selecting the best clones for different uses. It is also indispensable for bamboo breeding which they have ventured into and have successfully produced 12 hybrids. For each species, the information on nomenclature, description, distribution, live collections, location, planting date, propagule and provenance, dried specimens are given in detail. The species descriptions are focused on the vegetative characters, which are very useful for identification. Many photographs are helpful but some species don't have close-up pictures of the new shoots which are so important in identifying species in a vegetative state. A number of species of Pseudoxytenanthera and Ochlandra, native to south India, which are seldom illustrated in bamboo books, are depicted here. This book is a wonderful record of the live bamboo collection at TBGRI and a useful reference for understanding the conservation of the bamboo genetic diversity. It is a very useful handbook for bamboo researchers, collectors, growers as well as amateurs.

Prof. Dr. Xia Nianhe
Curator of the Living Collection
South China Botanical Garden
Chinese Academy of Sciences